THE USE OF *LEMNA MINOR* FOR EVALUATION OF FLUORANTHENE TOXICITY

Majerová A., Kummerová M.

Department of Plant Physiology and Anatomy, Institute of Experimental Biology, Faculty of Science, Masaryk University, Kotlářská 2, 611 37 Brno, Czech Republic

E-mail: adela.majerova@seznam.cz

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the effect of fluoranthene (FLT), which is one of the most abundant PAHs with ubiquitous environmental distribution, and its increasing concentration (0, 0.1 and 1 $mg.l^{-1}$) on growth of *Lemna minor* L. (number of plants, leaf area) and primary photosynthetic processes (parameters of chlorophyll fluorescence and content of photosynthetic pigments). These rapidly-growing plants have found uses as a model system for studies in community ecology, ecotoxicology, production of biopharmaceuticals and as a source of animal feeds for agriculture and aquaculture. Significant decrease of plant number, biomass production and leaf area size was recorded only after 4 days of cultivation in FLT 1 $mg.l^{-1}$ treatment, whereas the lower concentration FLT 0.1 $mg.l^{-1}$ stimulated temporarily the content of photosynthetic pigments. Surprisingly, after 10 days of cultivation in both FLT treatments no significant negative effects to any assessed parameter were found.

Key words: PAH fluoranthene, *Lemna minor*, growth, chlorophyll fluorescence, photosynthetic pigments

Acknowledgement: Czech Science Foundation project no. GAČR 522/09/0239

ÚVOD

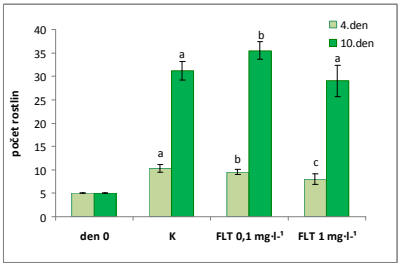
Terestrické a akvatické ekosystémy jsou ovlivňovány řadou toxických organických sloučenin především antropogenního původu. Polycyklické aromatické uhlovodíky (PAHs) jsou rizikovou skupinou polutantů pro všechny živé organismy vzhledem k jejich distribuci v biosféře, rizikovým vlastnostem a schopnosti akumulace v živočišných tkáních a rostlinných pletivech. Rostliny stojící na počátku potravního řetězce umožňují příjem PAHs do vyšších trofických úrovní (Zuo et al. 2006). Řada rostlinných druhů je využívána pro testování toxicity chemických látek a jejich směsí např. v odpadních vodách, kontaminovaných sedimentech a výluzích z nebezpečných odpadů. Z vodních cévnatých rostlin je hojně využíván okřehek (*Lemna* sp.).

MATERIÁL A METODIKA

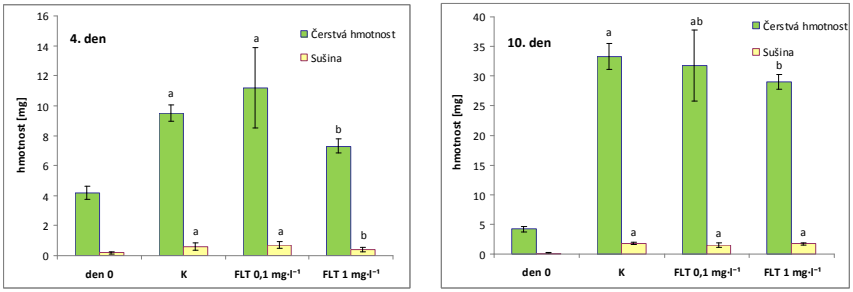
Experimentální rostlinou byl okřehek menší (*Lemna minor* L.), který byl kultivován v Steinbergově modifikovaném médiu (SMM). Experiment probíhal v mikrotitračních destičkách (6 jamek, objem jamky 12 ml). Přibližně stejné rostliny okřehku byly umístěny do destiček (5 rostlin na jamku) a kultivovány v SMM bez (kontrola) a s přídavkem fluorantenu (FLT, 0.1 a 1 mg l^{-1}). Po 4 a 10 dnech kultivace v řízených podmínkách (teplota 22±2°C, relativní vzdušná vlhkost 60%, ozářenost 150 µmol/m^2/s , fotoperioda 12/12) u každé experimentální varianty byl hodnocen počet rostlin, jejich čerstvá hmotnost a sušina. Obsah fotosyntetických pigmentů byl stanoven spektrofotomericky při použití 100% acetonu. Velikost listové plochy a parametry fluorescence chlorofylu (F_0, F_V/F_M, a NPQ) byly získány pomocí fluorometru HandyCam (PSI). Výsledky byly zpracovány a vyhodnoceny v programu Statistica.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Z výsledků (obr. 1 a 2) je patrno, že po 4 dnech kultivace okřehku v přítomnosti FLT 0,1 a 1 mg.l^{-1} byl zaznamenán v porovnání s kontrolou významně nižší počet rostlin. Jejich čerstvá hmotnost i sušina byly významně sníženy pouze koncentrací 1 mg.l^{-1}. Oproti tomu, nízká koncentrace FLT 0.1 mg.l^{-1} hmotnost rostlin stimulovala.

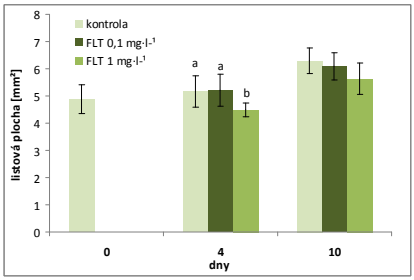


Obr. 1 Počet rostlin okřehku po 4 a 10 dnech kultivace v přítomnosti FLT



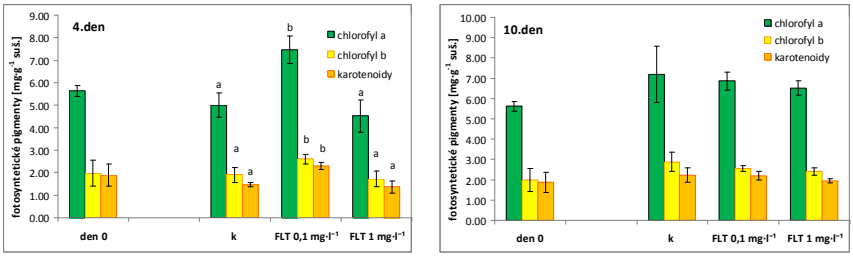
Obr. 2 Čerstvá hmotnost a sušina rostlin okřehku kultivovaných 4 a 10 dní v přítomnosti FLT

Rostliny okřehku rostoucí ve vyšší koncentraci FLT (1 mg.l^{-1}) měly po 4 dnech menší listovou plochu (obr. 3), po 10 dnech expozice však nebyly prokázány žádné významné rozdíly oproti kontrole.



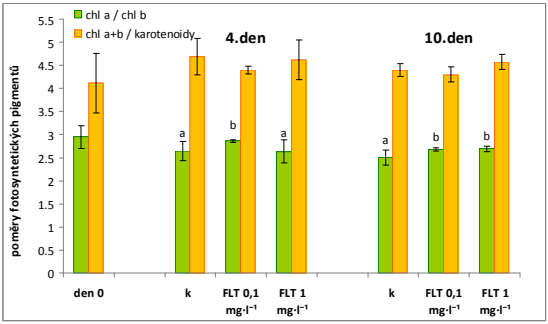
Obr. 3 Velikost listové plochy rostlin okřehku po 4 a 10 dnech kultivace v přítomnosti FLT

Obsah fotosyntetických pigmentů (chlorofyl ***a***, ***b***, karotenoidy; obr. 4) byl významně zvýšen pouze po 4 dnech kultivace okřehku nízkou koncentrací FLT (0,1 mg.l^{-1}), po 10 dnech kultivace však nebyly zjištěny žádné významné rozdíly mezi experimentálními variantami.



Obr. 4 Obsah fotosyntetických pigmentů v rostlinách okřehku po 4 a 10 dnech kultivace v přítomnosti FLT

Z vypočtených hodnot poměru množství chlorofylů ***a*** a ***b*** (chl ***a*** / chl ***b***) vyplývá, že zatímco po 4 dnech kultivace se na zvýšení jeho hodnoty podílel zejména vyšší obsah chlorofylu ***a***, po 10 dnech pak nižší obsah chlorofylu ***b***. Poměr sumy chlorofylů ***a*** a ***b*** k obsahu karotenoidů (chl ***a***+***b*** / kar) se v průběhu expoziční doby významně neměnil.



Obr. 5 Poměry obsahů fotosyntetických pigmentů u rostlin okřehku po 4 a 10 dnech kultivace v přítomnosti FLT

Parametry fluorescence chlorofylu (základní fluorescence F_0, maximální kvantový výtěžek PSII F_V/F_M, nefotochemické zhášení NPQ) obvykle signalizují přítomnost stresoru a jeho vliv na primární fotosyntetické procesy. Ze získaných výsledku je však zřejmé, že u rostlin okřehku vystavených vlivu FLT nebyly zaznamenány žádné významné změny jejich hodnot a to ani po 10 dnech kultivace.

Tab. 1 Parametry fluorescence chlorofylu u rostlin okřehku po 4 a 10 dnech kultivace v přítomnosti FLT

Dny kultivace	FLT [mg·l^{-1}]	F_0 (a.u.)	F_V/F_M	NPQ
0	kontrola	45,95 ± 4,42	0,77 ± 0,01	0,40 ± 0,04
4	kontrola	46,92 ± 2,84	0,77 ± 0,01	0,41 ± 0,05
	0,1	48,60 ± 2,89	0,72 ± 0,02	0,43 ± 0,05
	1	49,75 ± 3,51	0,71 ± 0,02	0,47 ± 0,12
10	kontrola	56,30 ± 4,52	0,72 ± 0,03	0,46 ± 0,12
	0,1	57,00 ± 4,75	0,70 ± 0,02	0,45 ± 0,03
	1	58,61 ± 4,73	0,67 ± 0,01	0,49 ± 0,04

ZÁVĚR

Po 10 denní kultivaci okřehku v prostředí s PAH fluorantenem nebyly prokázány významné změny ve sledovaných biochemických a fyziologických parametrech. *Lemna minor* je vodní cévnatá rostlina využívaná jako modelový druh pro posuzování toxicity chemických látek. Avšak, jak uvádí např. Drost et al. (2007), obvyklá 10 denní expozice neumožňuje spolehlivě posoudit vliv

kontaminantů – toxických kovů a, jak dokládají výsledky této studie, ani organických polutantů. Vzhledem k pravděpodobně nižší citlivosti této rostliny může být riziko kontaminace prostředí při dodržení standardních podmínek testu podhodnoceno. Koncentrace FLT 1 $mg.l^{-1}$ představuje již poměrně vysoké zatížení, které po stejné době expozice u terestrických rostlinných druhů vyvolává ve výše uvedených parametrech negativní změny (Kummerová et al. 2006).

LITERATURA

Drost W., Matuje M., Backhaus T. (2007). Heavy metal toxicity to Lemna minor: studies on the time dependence of growth inhibition and the recovery after exposure. Chemosphere 67: 36-43.

Kummerová M., Krulová J., Zezulka Š., Tříska J. (2006): Evaluation of fluoranthene phytotoxicity in pea plants by Hill reaction and chlorophyll fluorescence. Chemosphere 65(3): 489-496.

Zuo Q., Lin H., Zhang X.L., Li Q.L., Liu S.Z., Tao S. (2006): A two-compartment exposure device for foliar uptake study. Environmental Pollution 143: 126-128.